

مقایسه اثرات ضد باکتریایی اسانس گیاهان بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) علیه برخی باکتری های بیماریزای مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی

علی احسانی^۱، عمر عزیزاده^{۲*}، محمد هاشمی^۲، شادیه محمدی^۲، سرور خلیلی^۲

^۱گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ ^۲دانشجو، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: استفاده از نگهدارنده های شیمیایی و مضرات آن ها، سبب شده که تولیدکنندگان مواد غذایی اخیراً گرایش به استفاده از نگهدارنده های طبیعی در مواد غذایی پیدا کنند. اسانس های گیاهی که همان روغن های فرار (volatile oils) می باشند، روغن های مایع و معطر گیاهانند. گیاهان معطر حاوی اسانس هایی با خواص ضد میکروبی هستند. در این مطالعه اثرات ضد باکتریایی اسانس های بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) و بادرشبو (*Dracocephalum moldavica*) علیه ۴ باکتری بیماریزای مواد غذایی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی پس از تهیه باکتری های مورد بررسی، با روش انتشار بر روی دیسک قطر هاله ممانعت از رشد و با روش میکرودايلوشن حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل غلظت کشندگی برای هر دو اسانس بادرنجبویه و بادرشبو تعیین شد و جهت مقایسه نتایج از نرم افزار SPSS با آزمون تی تست استفاده گردید و سطح اختلاف معنی دار کمتر از ۰/۰۵ انتخاب شد ($P < 0.05$).

یافته ها: نتایج این مطالعه بیانگر تأثیر ضد میکروبی قوی دو اسانس فوق روی این باکتری ها بود. باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با حداقل غلظت ممانعت کنندگی ۱/۲ mg/mL (برای هر دو اسانس) حساس ترین باکتری در مقابل اسانس های بادرنجبویه و بادرشبو بود. در این میان اسانس بادرنجبویه اثرات ضد باکتریایی قوی تری علیه باکتری های مورد آزمایش در مقایسه با اسانس بادرشبو داشت.

نتیجه گیری: نتایج حاصل بیانگر توان مهارکنندگی و ضد باکتریایی اسانس های بادرنجبویه و بادرشبو علیه این میکروارگانیسم های بیماریزا می باشد که می تواند به عنوان یک ماده ضد میکروبی گیاهی، جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی ضد باکتری باشد و در صنایع غذایی و داروسازی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: بادرنجبویه، بادرشبو، اسانس های گیاهی، خواص ضد باکتریایی.

مقدمه:

به عنوان افزودنی های طبیعی، روی آورده است (۱)؛ بنابراین لزوم انجام پژوهش در خصوص اثرات ضد میکروبی نگهدارنده های طبیعی و اسانس های گیاهی بر رشد میکروارگانیسم های مهم مواد غذایی در مدل های آزمایشگاهی و غذایی افزایش یافته است (۲). اثرات ضد باکتریایی برخی از اسانس های گیاهی علیه باکتری های گرم مثبت و گرم منفی مهم در مواد غذایی بررسی شد و

با گسترش مطالعات علمی و آگاهی مردم از خطرات نگهدارنده های شیمیایی به کار رفته در مواد غذایی به منظور جلوگیری از فساد میکروبی و عدم اکسیداسیون چربی ها، صنعت تولید به سمت استفاده از نگهدارنده های طبیعی همچون، اسانس های روغنی و عصاره گیاهان در مواد غذایی به علت دارا بودن ویژگی های ضد باکتری، ضد قارچی و آنتی اکسیدانی

نتایج حاصله حداقل غلظت ممانعت کنندگی علیه هر یک از باکتری‌ها را تعیین نمود؛ همچنین اثر ضد باکتریایی این اسانس‌ها بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیش تر از گرم منفی است (۳).

گیاه بادرنبویه با نام علمی *Melissa officinalis* گیاهی علفی به ارتفاع ۳۰ تا ۸۰ سانتی‌متر و متعلق به خانواده نعنائیان (*Labiatae*) می باشد. برگ های گیاه قلبی شکل، دنداندار و پوشیده از تار، رنگ آن ها در سطح فوقانی، سبز تیره و در سطح تحتانی سبز روشن است. گل ها به رنگ سفید یا صورتی است که از ماه خرداد تا اواسط مرداد ماه ظاهر می‌شوند (۴). اندام‌های بادرنبویه دارای ۰/۲-۰/۳ درصد روغن فرار است که حاوی ترکیبات متعددی بوده و با دستگاه کروماتوگرافی گازی Shimadzu GC-9A با ستون DB-5 و دتکتور FID شناسایی شد که فراوان ترین ترکیبات آن شامل سیترونل، کارواکرول، ژرانیل و آلفا پینن می‌باشد (۵). بادرنبویه دارای اثر آرام بخش، ضد اضطراب، ضد اسپاسم و ضد باکتری می باشد (۶). در بررسی صورت گرفته روی اسانس روغنی گیاه بادرنبویه، تعیین گردید که این اسانس دارای فعالیت ضد میکروبی، ضد مخمری و ضد قارچی مناسبی است (۵).

همانطور که می دانیم گیاه بادرشبو با نام علمی *Dracocephalum moldavica. L* و نام های محلی بادرشبی یا بادرشبو (۷)، گیاهی علفی، بومی آسیای مرکزی می‌باشد؛ اما در مرکز و شرق اروپا نیز وجود دارد (۸). در این گیاه ترکیبات متعددی وجود دارد که ژرانیل استات، ژرانیل، ژرانیول و نرال اصلی ترین ترکیب های شناخته شده هستند (۹). برخی از این ترکیب ها دارای مصارف متعدد دارویی، بهداشتی و صنعتی می‌باشد (۱۰). در ایران ۸ گونه علفی یک ساله یا چند ساله معطر با گل های شهدآور و اندام های هوایی اسانس دار وجود دارد (۱۱). عصاره آبی بادرشبو دارای خواص آنتی اکسیدانی فراوانی است (۸). در مطالعه‌ای که بر روی فعالیت ضد میکروبی این گیاهان در شرایط

آزمایشگاهی صورت گرفت، اسانس روغنی این گیاهان فعالیت ضد میکروبی مناسبی را از خود نشان داد (۵). سالمونلاتیفی موریوم باکتری گرم منفی، میله‌ای شکل، فاقد کپسول، همواره متداول ترین وارسته سرولوژیک جدا شده از مواد غذایی در سراسر جهان می‌باشد (۱۲). عوامل بیماری زای منتقله از غذا همچون اشیشیاکلی، سالمونلا، لیستریا مونوسیژنوز و غیره به‌عنوان عواملی همه جایی، همواره سبب ایجاد واگیری و مرگ و میر در جوامع انسانی بوده و هستند. به‌عنوان مثال براساس تخمین های ثبت شده، سالانه سه میلیون مورد مرگ و میر ناشی از سالمونلوز در سراسر جهان گزارش شده است (۱۳). لیستریا مونوسیژنوز موجب عفونت لیستریوزیز، سپتی سمی، مننژیت، سقط جنین و مسمومیت غذایی می گردد (۱۴)؛ همچنین استافیلوکوکوس اورئوس عامل اتیولوژیک دامنه وسیعی از بیماری ها مانند اندو کاردیت، اوستومیلیت، سندرم شوک سمی، مسمومیت‌های غذایی و عفونت‌های پوستی می‌باشد (۱۵)، لذا توجه به فعالیت ضد باکتریایی اسانس‌ها و کارایی آن ها علیه میکروارگانیسم ها و از آنجا که تاکنون میزان دقیق حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌های روغنی دو گیاه بادرنبویه و بادرشبو در شرایط یکسان و در مقایسه با هم روی چهار باکتری بیماری‌زای اشیشیاکولی، سالمونلاتیفی موریوم، استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیژنوز، به‌عنوان باکتری‌های حائز اهمیت در ایمنی مواد غذایی، تعیین نشده است؛ بنابراین هدف از انجام این بررسی ارزیابی خواص ضد باکتریایی اسانس های بادرنبویه و بادرشبو به روش های میکرودايلوشن و انتشار از دیسک جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس‌های دو گیاه مذکور در شرایط آزمایشگاهی بود.

روش بررسی:

در این مطالعه که به روش بررسی تجربی صورت گرفت، قسمت های هوایی گیاهان بادرشبو و

بادرنجبویه در مرحله گلدهی گیاه در فصل تابستان از شهرستان ارومیه جمع آوری و توسط بخش گیاه شناسی مرکز جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی مورد تأیید قرار گرفت؛ سپس اسانس گیاهان خشک شده به روش تقطیر با بخار آب و به وسیله دستگاه کلونجر تهیه شد (۱۶).

ابتدا باکتری های اشریشیاکولی (PTCC 1533)، لیستریا مونوسایتوزنز (PTCC 1298)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1015) و سالمونلا تیفی موریوم (PTCC 1730)، از کلکسیون میکروبی گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه تهیه شد. یک گرانول از لوله های کرایو مورد نظر در شرایط سترون خارج و به ۱۰ میلی لیتر محیط BHI براث منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد؛ سپس از هر یک از باکتری ها در محیط BHI آگار کشت داده و نگهداری شد. باکتری ها قبل از استفاده به طور متوالی دو بار تجدید کشت گردیدند. برای این منظور ۴-۵ کلنی باکتری از BHI آگار را به ۱۰ میلی لیتر BHI براث منتقل و در ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. کشت دومی را با انتقال ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی به ۱۰ میلی لیتر BHI براث تهیه و در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۰ ساعت نگهداری گردید، سپس از کشت ۲۰ ساعته رقت لازم را تهیه و تعداد باکتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر روی نیم مک فارلند که معادل $10^6 \times 1/5$ عدد باکتری می باشد، تنظیم گردید.

بعد از تنظیم تعداد باکتری ها روی نیم مک فارلند، ۲ بار در محیط کشت پیتون واتر ۰/۱٪ (۱ میلی لیتر از باکتری در ۹ میلی لیتر واتر) رقیق گردید تا تعداد باکتری به $10^6 \times 1/5$ CFU/mL رسید. ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری های مورد نظر بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شد؛ سپس روی آن دیسک های کاغذی با قطر ۶ mm با پنس در شرایط استریل، با فاصله مناسب قرار داده شد. از غلظت های

مختلف اسانس بادرنبویه و بادرشبو به میزان ۲۰ میکرولیتر روی دیسک ها ریخته شد و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. بعد از ۲۴ ساعت هاله های ایجاد شده در اطراف دیسک های حاوی اسانس ها با استفاده از کولیس اندازه گیری شد. از دیسک های آنتی بیوتیکی ونکومایسین و آمپی سلین نیز جهت کنترل مثبت استفاده شد (۱۷).

برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) از روش (Microdilution) و با استفاده از میکروپلیت های ۹۶ خانه ای استفاده گردید. بعد از تنظیم باکتری روی نیم مک فارلند، ۲ بار در محیط کشت پیتون واتر ۰/۱٪ (۱ میلی لیتر از باکتری در ۹ میلی لیتر از پیتون واتر) رقیق گردید تا تعداد باکتری به $10^6 \times 1/5$ CFU/mL رسید؛ سپس اسانس ها در محدوده غلظتی ۴۰-۰/۵۶۲ mg/ml تهیه شد؛ سپس مطابق دستور زیر در میکروپلیت های ۹۶ خانه ای ریخته شد: ۱۶۰ میکرولیتر از BHI براث، ۲۰ میکرولیتر از اسانس و ۲۰ میکرولیتر از باکتری (جمعاً ۲۰۰ میکرولیتر). برای هر اسانس در هر غلظت ۳ تکرار گذاشته شد. کنترل اسانس (بدون افزودن باکتری) و کنترل باکتری ها (بدون اسانس) نیز در چاهک ها قرار داده شد. در آخر میکروپلیت ها به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار گرفت؛ سپس MIC و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش چشمی و مشاهده کدورت و سپس کشت در محیط نوترینت آگار تعیین گردید (۱۷).

یافته ها:

یافته های حاصل از این مطالعه تجربی در جداول زیر درج گردیده اند. در جدول شماره ۱، قطر هاله ممانعت از رشد اسانس گیاهان بادرنبویه و بادرشبو و همچنین تأثیر دو آنتی بیوتیک وانکومایسین و آمپی سلین بر روی چهار باکتری مورد بررسی ذکر شده است. بررسی مقایسه ی خاصیت ضد باکتریایی (قطر هاله ی ممانعت از رشد) اسانس گیاهان بادرنبویه و بادرشبو توسط نرم افزار

SPSS با آزمون تی تست انجام گرفت و نتایج با مقدار $P < 0.05$ به عنوان نتایج معنی دار تلقی گردید. براساس نتایج حاصل از آزمایش انتشار از دیسک، هر دو اسانس در غلظت های ۱۵ mg/ml و ۱۰ بیشترین اثر را بر روی باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و لیستریا مونوسیتوژنز داشته اند و کمترین اثر در این دو غلظت اسانس، بر روی باکتری های اشیریشیا کولی و سالمونلاتیفی موریوم مشاهده گردید.

جدول شماره ۱: قطر هاله ی ممانعت از رشد اسانس بادرنبویه و بادرشو علیه ۴ باکتری بیماریزای غذایی بر حسب میلی متر

میکروارگانسیم ها					
اسانس	غلظت	استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا مونوسیتوژنز	اشیریشیا کولی	سالمونلاتیفی موریوم
بادرنجویه	۱۵ mg/ml	۱۵±۰/۱۶*	۱۵/۱۰±۰/۲۲*	۱۱/۱۷±۰/۱۴*	۱۰/۱۲±۰/۲۷*
	۱۰ mg/ml	۱۰/۶۰±۰/۲۴	۱۰/۴۵±۰/۳۱	۹/۷۴±۰/۲۶	۸/۸۷±۰/۳۲
بادرشو	۱۵ mg/ml	۱۲/۱۵±۰/۱۲*	۱۱/۲۱±۰/۲۴*	۹/۲۵±۰/۳۶*	۹/۲۷±۰/۴۱*
	۱۰ mg/ml	۹/۵۳±۰/۱۸	۹/۱۱±۰/۱۴	۸/۲۱±۰/۲۹	۸/۵۵±۰/۵۲
ونکومایسین	عدم رشد	عدم رشد	۲۶/۳±۰/۰۷	عدم رشد	عدم رشد
آمی سیلین	عدم رشد	عدم رشد	۳۲/۲±۰/۲	۱۸/۲±۰/۱۱	۱۸/۸۰±۰/۱۵

مقادیر تعیین شده (*) به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از بررسی خواص ضد باکتریایی اسانس گیاهان بادرنبویه و بادرشو جهت تعیین MIC و روی چهار باکتری مورد مطالعه در جدول شماره ۲ ذکر شده است. طبق این بررسی حداقل غلظت کشندگی اسانس بادرنبویه بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و اشیریشیا کولی به ترتیب ۲/۵ mg/ml و ۲۰ بود که به ترتیب حساس ترین و مقاوم ترین باکتری به اسانس بادرنبویه بوده اند. با وجود اینکه حداقل غلظت کشندگی اسانس هر دو گیاه روی باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس یکسان بود، اما حداقل غلظت کشندگی اسانس بادرشو برای باکتری گرم منفی اشیریشیا کولی ۴۰ mg/ml حاصل شد.

جدول شماره ۲: میزان حداقل غلظت ممانعت کنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس بادرنبویه و بادرشو علیه تعدادی از باکتری های بیماریزای غذایی بر حسب میلی گرم در میلی لیتر

اسانس (mg/ml)		بادرنجویه		بادرشو	
MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
استافیلوکوکوس اورئوس	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵	۱/۲۵	۲/۵
لیستریا مونوسیتوژنز	۱۰	۱۰	۱۰	۲۰	۲۰
اشیریشیا کولی	۲۰	۲۰	۲۰	۲۰	۴۰
سالمونلاتیفی موریوم	۲۰	۲۰	۱۰	۲۰	۴۰

MIC: حداقل غلظت ممانعت کننده رشد و MBC: حداقل غلظت کشندگی.

بحث:

امروزه با توجه به عوارض جانبی داروهای شیمیایی و بی خطر بودن ترکیبات گیاهی به تحقیق در مورد گیاهان دارویی توجه فراوانی معطوف شده است (۷). با توجه به اینکه در سال های اخیر به صورت گسترده ای از

آنتی بیوتیک ها استفاده می شود، این امر باعث ایجاد مقاومت در باکتری ها شده و از طرفی هم این آنتی بیوتیک ها اثرات جانبی متعدد نیز دارند؛ بنابراین توجه به استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان عوامل ضد باکتریایی بیشتر شده است. اثرات اسانس های گیاهی زیادی جهت کنترل رشد باکتری ها و قارچ ها در این سه دهه گذشته بررسی شده است (۶).

روش های انتشار از دیسک و میکروداپلوشن (تعیین MIC و MBC) از روش های تشخیص خاصیت ضد باکتریایی اسانس ها و عصاره های گیاهی می باشد. اغلب مطالعات انجام شده روی اثرات اسانس ها بر ارگانسیم های عامل فساد و پاتوژن های با منشأ غذایی موافق این مسئله اند که اثر اسانس ها روی باکتری های گرم مثبت قدری بیشتر از تأثیر آن ها روی باکتری های گرم منفی است (۳) که در تحقیقات زیر این یافته مورد تأیید قرار گرفته است. با مطالعه روی اسانس گیاه آویشن معلوم شد که باکتری های گرم مثبت (لیستریا منوسیتوژنز و استافیلوکوکوس آرنوس) حساس تر از باکتری های گرم منفی (سالمونلا آنتریدیدیس و سودوموناس آئروژینوزا) بودند و از طرفی میزان حساسیت، تابعی از نوع و میزان اسانس است (۱۸). در بررسی پوشش فیلم پروتئین آب پنیر، حاوی اسانس پونه کوهی و اسانس سیر دارای اثرات ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری های گرم مثبت استافیلوکوکوس آرنوس و لیستریا منوسیتوژنز است (۱۹). با مطالعه ای که روی ویژگی های ضد باکتریایی فیلم خوراکی زئین حاوی اسانس آویشن شیرازی و مونولورین بر علیه لیستریا منوسیتوژنز و اشیشیاکلی O157:H7 در شرایط آزمایشگاهی انجام گرفت، گزارش شد که اسانس آویشن شیرازی اثرات ضد میکروبی قابل توجهی بر روی باکتری های گرم مثبت دارد (۲۰). در تحقیقی دیگر که اثرات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بادرنبویه بررسی شد، نشان دادند که اسانس این گیاه دارای بیشترین اثر ضد باکتریایی روی شیگلا سونئی بود (۲۱). بررسی که جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد و حداقل

غلظت کشندگی اسانس روغنی گیاه بادرنبویه روی تعدادی از باکتری های گرم مثبت و گرم منفی منتقله از مواد غذایی انجام گرفت، فعالیت ضد میکروبی مناسبی از این اسانس نشان داده شد (۵). در تحقیقی که روی تأثیر عصاره و اسانس گیاه بادرنبویه علیه باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و اشیشیاکلائی در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت، نتایج مشابهی مبنی بر مهار رشد این باکتری ها توسط اسانس گیاه بادرنبویه حاصل شد (۲۲)، ولی طی بررسی کنونی علاوه بر ۲ باکتری فوق الذکر روی ۲ باکتری لیستریا منوسیتوژنز و سالمونلا تایفی موریوم در شرایط و غلظت های متفاوتی نسبت به مطالعه ی قبلی و همچنین علاوه بر اسانس گیاه بادرنبویه، تأثیرات ضد میکروبی اسانس گیاه بادرشبو که در بسیاری از موارد بر تفاوت بودن ویژگی های گیاه شناختی و تأثیرات آن ها تأکید نشده است، نیز صورت گرفت. بعضی یافته ها نشان می دهند که اسانس بادرنبویه اثر خوبی بر مهار رشد هرپس ویروس ها نیز داشته است (۲۳)؛ همچنین اسانس بادرنبویه اثرات ضد باکتریایی خوبی را بر علیه اشیشیاکلی O157:H7 (Escherichia coli O157:H7) و سالمونلا انتریکا (Salmonella enterica) دارد (۲۴) و فعالیت قطر هاله ی ممانعت از رشد قابل توجه این اسانس روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با آنتی بیوتیک آمپی سیلین تعیین شد (۲۵). متأسفانه تاکنون مطالعه ای در مورد اثرات ضد باکتریایی گیاه بادرشبو انجام نگرفته است.

نتایج این بررسی ها با نتایج مطالعه تجربی حاضر و حاصل از روش های انتشار از دیسک و میکروداپلوشن برای هر دو اسانس بادرنبویه و بادرشبو در شرایط آزمایشگاهی مطابقت دارد و با تأیید اینکه نتایج مطالعه ی ما نیز اثرات موثر ضد میکروبی بیشتر اسانس های این گیاهان علیه باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی را نشان می دهد، بیان می نمایند. علت حساسیت کمتر گرم منفی ها به اثرات ضد باکتریایی اسانس ها بخاطر غشاء خارجی اطراف دیواره

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات دیسک دیفیوژن و میکرودايلوشن و مقایسه این نتایج می توان بیان کرد، اسانس این گیاهان دارای اثرات ضد باکتریایی علیه میکروب های بررسی شده بود و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس دارای بیشترین حساسیت به اسانس های بادرشبو و بادرنجبویه می باشد؛ همچنین اسانس گیاه بادرنجبویه در مقایسه با آنتی بیوتیک های به کار رفته اثر مهاري قابل توجهی داشت، لذا خلص سازی و ارزیابی اثرات ضد باکتریایی ترکیبات فعال اسانس این دو گیاه جهت استفاده آن ها به منظور ترکیب ضد باکتریایی و نگهدارنده مواد غذایی تحت عنوان یک ماده مصرف سبز گیاهی و جایگزینی مناسب برای ترکیبات شیمیایی علیه میکروارگانیسم های مسمومیت زا و منتقله از مواد غذایی تولیدی در صنایع غذایی جهت بهبود کیفیت ایمنی و سلامت غذایی در مصرف کنندگان توصیه می شود؛ همچنین یافته ی مورد توجه دیگر در این بررسی تجربی بر این صحنه می گذارد که اسانس گیاه بادرنجبویه موثرتر از بادرشبو عمل کرده و می تواند جایگزین مناسب و موثرتری به عنوان ماده ضد میکروبی در مقایسه با اسانس گیاه بادرشبو باشد.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد با مساعدت استاد راهنمای عزیزم دکتر علی احسانی دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی دانشگاه ارومیه، همچنین همکاری پرسنل محترم گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی، دانشجویان و دوستان خویم در این بخش انجام شده است که بدینوسیله از آن ها تشکر و قدردانی می گردد.

سلولی گرم منفی ها می باشد که سبب محدود کردن انتشار اجزاء آبگریز اسانس ها به لایه لیپوپلی ساکاریدی می گردد. غشای خارجی باکتری های گرم منفی دارای کاتیون های دو ظرفیتی و قسمت پلی ساکاریدی لیپوپلی ساکاریدها در سطح سلول می باشد. این ترکیبات آب دوست بوده و به عنوان یک سد علیه ماکرو مولکول ها و ترکیبات آب گریز مانند ترکیبات موجود در اسانس های گیاهی عمل می کند. البته گاهی موارد استثنائی نیز مشاهده شده که حساسیت گرم مثبت ها کمتر بوده است. هر جزء از اجزاء اسانس ها درجات متفاوتی از فعالیت را علیه باکتری های گرم مثبت یا گرم منفی نشان می دهد؛ همچنین ترکیبات شیمیایی اسانس های به دست آمده از یک گونه گیاهی خاص برحسب اینکه از مناطق مختلف جغرافیایی و یا مراحل مختلف برداشت به دست آمده باشند، می تواند متفاوت باشد. شاید علت تفاوت اثرات اسانس ها بین باکتری های گرم مثبت و گرم منفی همین تغییرات در یک نوع اسانس باشد. لازم به بیان این نکته است که با وجود ترکیبات شیمیایی متعدد در اسانس گیاهان، نمی توان مکانیسم واحدی برای اثرات ضد باکتریایی آن ها یا هدف واحدی را در سلول، برای اثرات آن ها در نظر گرفت. این مکانیسم ها جداگانه عمل نمی کنند، بلکه بعضی از آن ها توسط سایر مکانیسم ها تحت تأثیر قرار می گیرند. به طور کلی هر چه مقادیر ترکیبات فنولیک از قبیل کارواکرول، اوژنول و تیمول در اسانس ها بالاتر باشد، خواص ضد باکتریایی آن ها علیه پاتوژن های غذایی بیشتر خواهد بود. احتمالاً مکانیسم اثر این ترکیبات هم مانند سایر ترکیبات فنولی شامل موارد زیر همچون: اختلال در غشاء سیتوپلاسمی، بر هم زدن نیروی حرکت پروتونی و جریان الکتریکی، انعقاد محتویات سلولی باشد (۳).

منابع:

1. Saatchi I, Kadivar M, Soleymnizad S. Antioxidant and antifungal effects of ethanol extracts of *Melissa officinalis* and *Valeriana officinalis*. 18th National Congress on Food Tech. 2008.

2. Ehsani A, Mahmoodi R, Peyman Z, Abbas H. Bio chemical properties and antimicrobial effects of *Allium ascalonicum* and *pimpinella anisum* essential oils against *listeria monocytogenes* in white brined cheese. *J Food Tech Res*. 2011; 21(3): 318-27.
3. Kaufman P, Cseke L, Warber S, Duke J, Briellmann H. Natural products from plants. 2nd ed. USA: Boca Raton CRC Press; 1999.
4. Dastmalchi K, Dorman HD, Laakso I, Hiltunen R. Chemical composition and antioxidative activity of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extracts. *LWT-Food Sci Technol*. 2007; 40(9): 1655-63.
5. Davazdahemami S, Sefidkon F, Jahansooz MR, Mazaheri D. Comparison of biological yield, essential oil content and composition and phenological stages of moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) in three planting dates. *Iran J Med Aromatic Plant*. 2008; 31(3): 263-70.
6. Venskutonis P, Dapkevičius A, Baranauskienė M. Flavour composition of some lemon-like aroma herbs from Lithuania. *Dev Food Sci*. 1995; 37: 833-47.
7. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem*. 2004; 52(9): 2485-9.
8. Chevallier A. The encyclopedia of medicinal plants. London: Dorling Kindersley Pub; 1996.
9. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3): 223-53.
10. Zargari A. Medicinal Plants. Tehran: Tehran University Pub; 1990.
11. Tajik H, Razavi Rohani S, Moradi M, Farhangfar A. Evaluation of antibacterial characteristics of zein edible film incorporated with *zataria multiflora* boiss essential oil and monolaurin against *listeria monocytogenes* and *E. coli* o157: h7 in vitro. *Urmia Med J*. 2012; 23 (3): 232-240 22.
12. Pang T, Bhutta ZA, Finlay BB, Altwegg M. Typhoid fever and other salmonellosis: a continuing challenge. *Trends Microbiol*. 1995; 3(7): 253-5.
13. Farber JM, Peterkin PI. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol Rev*. 1991; 55(3): 476-511.
14. Rostami H, Kazemi M, Shafiei S. Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria. *Asian J Biochem*. 2012; 7(3): 133-42.
15. Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A, Hasani A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *Excli J*. 2014; 13: 772-781.
16. Mozaffarian V. Iranian plants names. Tehran: Farhang Moaser Pub; 2003.
17. Mack D, Rohde H, Dobinsky S, Riedewald J, Nedelmann M, Knobloch JK, et al. Identification of three essential regulatory gene loci governing expression of *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin and biofilm formation. *Infect Immun*. 2000; 68(7): 3799-807.
18. Cetinkaya F, Cibik R, Soyutemiz GE, Ozakin C, Kayali R, Levent B. *Shigella* and *Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. *Food Control*. 2008; 19(11): 1059-63.
19. Naghsh N, Doudi M, Nikbakht Z. Investigation between alcoholic extract oil *Melissa officinalis* L. new in growth inhibition of *E.coli*. *Zahedan J Res Med Sci*. 2013; 15(8): 42-45.
20. Hosseini M, Razavi S, Mousavi M. Antimicrobial, physical and mechanical properties of chitosan-based films incorporated with thyme, clove and cinnamon essential oils. *J Food Process Preserv*. 2009; 33(6): 227-43.
21. Seydim AC, Sarikus G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res Int*. 2006; 39: 63-44.
22. Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, Reichling J. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine*. 2008; 15(9): 734-40.
23. Friedman M, Henika PR, Levin CE, Mandrell RE. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *J Agric Food Chem*. 2004; 52(19): 6042-8.
24. Ahmad VU, Jassbi AR, Pannahi MSC. Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* Guss. by means of GC, GC/MS and ¹³C-NMR techniques. *J Essent Oil Res*. 1999; 11(1): 107-8.
25. Weerakkody NS, Caffin N, Turner MS, Dykes GA. In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*. 2010; 21(10): 1408-14.

Comparative antibacterial effects of essential oils of *Melissa officinalis* and *Deracocephalum moldavica* L. against some pathogenic bacteria in food in vitro

Ehsani A¹, Alizade O^{2*}, Hashemi M², Mohamadi Sh², Khalili S²

¹Food Hygiene Dept., Urmia University, Urmia, I.R. Iran; ²Student, Food Hygiene Dept, Urmia University, Urmia, I.R. Iran.

Received: 30/Apr/2014 Accepted: 4/Jan/2015

Background and aims: Advantage and disadvantage of chemical preservatives have enforced food manufacturers to use natural preservatives in food industry. Vegetable oils (called volatile oils) are aromatic liquid, which come from plants. Aromatic plants are rich in essential oils, which have considerable antimicrobial properties. This study was aimed to investigate antibacterial effects of the essences of *Melissa officinalis* and *Deracocephalum moldavica* L. against some pathogenic bacteria in food in vitro.

Methods: In this experimental study, after providing bacteria for experiment by using disk diffusion zone diameter of growth inhibition and microdilution methods, Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) for both *Deracocephalum moldavica* L. and *Melissa officinalis* essences were evaluated. The results are compared by software SPSS and t-test statistical test. P<0.05 was considered significant.

Results: The results indicate strong antimicrobial effects of 2 mentioned essences against tested bacteria. *Staphylococcus aureus*, with a minimum inhibitory concentration (MIC) in 1/2 mg/ml, (for both essences) was the most sensitive bacterium to the essences of *Melissa officinalis* and *Deracocephalum moldavica* L. Antibacterial effects of *Melissa officinalis* were stronger than *Deracocephalum moldavica* L.

Conclusion: The results indicate that the essence of *Melissa Ofisinalis* and *Deracocephalum moldavica* L can be inhibitory and anti-bacterial against pathogenic microorganisms. These essences can be an excellent alternative for chemical preservatives and can use in the drug and food industry.

Keywords: *Deracocephalum moldavica* L., *Melissa officinalis*, Plant essence, Anti-bacterial properties.

Cite this article as: Ehsani A, Alizade O, Hashemi M, Mohamadi Sh, Khalili S. Comparative antibacterial effects of essential oils of *Melissa officinalis* and *Deracocephalum moldavica* L. against some pathogenic bacteria in food in vitro. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(4): 80-87.

***Corresponding author:**

Food Hygiene Dept., Urmia University, Urmia, I.R. Iran, Tel: 00989149801894,
E-mail: alizadeh138224@yahoo.com